

Dott. Livia Pirocchi

Assistente

---

INFLUENZA DEI RAGGI GAMMA  
SU *MACROSIPHUM ROSAE* L.

---

Lo studio dell'influenza dei raggi Roentgen e degli Ultra-Violetti sull'afide verde della rosa, mi diede modo, come esposti in precedenti note, di fare interessanti constatazioni sul diverso modo di reagire di tale insetto a radiazioni di natura diversa, di diversa lunghezza d'onda. Proseguendo, ora, nel campo di ricerche che promette risultati tanto brillanti, mi sono proposta di studiare l'influenza dei raggi gamma, radiazioni queste che, rispetto ai raggi Roentgen si differenziano, perchè si estendono verso lunghezze d'onda assai minori: da 300 a 4.7 U. X. Come oggetto degli esperimenti mi servii ancora dello stesso materiale biologico da me altra volta usato, il *Macrosiphum rosae* L.

**Modalità usate negli esperimenti.** — Gli esperimenti richiesero la consueta preparazione, sia per ottenere un « filum » partenogenetico puro di afidi da irradiare, sia per compiere uno speciale trattamento delle piante di rose a che fossero perfettamente prive di afidi al momento di ricevere la colonia di insetti irradiati e sia, infine, per mettere in pratica sistemi di isolamento per i diversi lotti di afidi diversamente irradiati. Al primo punto, cioè ad avere colonie costituite esclusivamente di *Macrosiphum rosae* L., provvidi tenendo sotto campana alcuni individui, di cui tutti i caratteri corrispondevano a quelli di tale specie, secondo la moderna classificazione del Theobald: gli insetti, riproducendosi rapidamente per partenogenesi, mi fornivano colonie numerose, dalle quali prelevavo gli afidi da irradiare. Dopo l'esposizione, trasportavo gli afidi su piante di rose preventivamente trattate

con sugo di tabacco, e, per garantire l'isolamento dei vari lotti di insetti diversamente irradiati, provvidi a coprire le piante con gabbiette circondate di garza, in modo da impedire che individui alati o si allontanassero dalla colonia o vi immigrassero. Accanto a tutto questo, seguii molti individui isolati, che mi hanno dato sempre assai bene la possibilità di studiare tutto l'andamento del loro ciclo biologico. Anche questi individui isolati, posti su ramoscelli di rosa conservati sempre freschi, ed opportunamente sostituiti ad intervalli di 3-4 giorni, erano tenuti sotto piccole campane coperte di garza, per maggior sicurezza.

L'irradiazione avvenne mediante sali di radio contenuti entro due scatole saldate, una di ottone, l'altra di rame, sicchè ne uscivano solamente raggi gamma: quella di ottone (che indicherò con A) aveva le dimensioni di  $20,5 \times 15 \times 0,4$  cm; l'altra (che indicherò con B) di  $22,5 \times 17,5 \times 2$  cm., la grossezza della parete nei due casi essendo di circa 1 mm. La preparazione dei sali di radio, uniformemente mescolata con sostanze inerti, contenuta in ogni scatola, riempiva tutta la scatola stessa, in modo che la radiazione fuoriuscente era uniformemente intensa su tutto il piano della scatola, sì da formare un uniforme campo di radiazione. La preparazione contenuta in A includeva mmg. 1,02 di radioelemento; l'altra era circa 19,5 volte meno attiva.

L'irradiazione degli afidi è avvenuta ponendo i ramoscelli di rosa con gli afidi parallelamente alla faccia più estesa della scatola, ad una distanza di circa 5 cm. da questa, in modo che l'irradiazione avvenisse senza altri schermi o filtri, che quello, inevitabile, costituito dall'ottone o dal rame della scatola, direttamente dalla preparazione agli individui.

In un secondo tempo, iniziai ricerche con filtratura dei raggi attraverso piombo, sulle quali spero di riferire in altro lavoro.

Sopra i risultati influi, come era da attendersi, notevolmente la dose d'irradiazione fornita, che, ferme restando le distanze tra sorgente radioattiva e oggetti irraggiati, era direttamente proporzionale alla durata dell'irraggiamento: e, fatto notevole, si manifestarono soglie fisse, oltrepassate le quali i fenomeni cambiavano completamente aspetto. Per chiarezza, distinguo le diverse dosi usate in forti, medie e piccole, a seconda della durata dell'irradiazione. Considererò forti quelle corrispondenti a durate comprese tra 13 e 72 ore; medie quelle tra 3 e 15 ore; piccole quelle tra venti minuti e un'ora e mezza.

**Risultati degli esperimenti.** — Dirò, anzitutto, che, per qualsiasi intensità gli afidi furono irradiati, mai ebbi a riscontrare variazioni morfologiche, nè con carattere sporadico, individuale, nè con carattere ereditario, come ebbi, invece, agio di vedere più volte, in modo cospicuo, mediante irradiazione con raggi Roentgen. I risultati ottenuti mediante irradiazione con raggi gamma interessavano, piuttosto, come già ebbi a notare per i raggi ultravioletti, la biologia di tali insetti, cioè tutti quei fenomeni che costituiscono il loro ciclo vitale: la rapidità dello sviluppo, la riproduzione, studiata tenendo calcolo della velocità di essa e del numero dei figli generati, la durata di vita.

**Irradiazione con dosi forti.** — Iniziai gli esperimenti, usando dosi forti e proponendomi di abbassare tali dosi fino a raggiungere un limite entro il quale gli afidi vivessero e, eventualmente, si riproducessero. Le irradiazioni con dosi forti, eseguite con la preparazione radioattiva più intensa A, furono quelle che, come era da prevedersi, ebbero risultati più disastrosi. Ripetei più volte gli esperimenti, esponendo gli afidi all'azione irradiante per 72, 48, 32, 24 e 18 ore e sempre, alla fine, non mi rimaneva che da constatare la morte della quasi totalità degli afidi esposti: infatti, continuavano a vivere, in media per 24 ore, il 3-4% degli irradiati.

**Irradiazione con dosi medie.** — Abbassai subito la durata dell'irradiazione, sempre usando il preparato radioattivo A, a un tempo che non superasse le 18 ore, provvedendo anche a ripetere l'esposizione con il preparato radioattivo più debole. La durata delle irradiazioni in questo secondo gruppo di esperimenti, fu compresa tra 3 e 15 ore e, precisamente, fu di 15, 12, 10, 8, 6, 3 ore. I risultati furono, nelle linee generali, omogenei per tutte le durate di esposizione, attenuandosi od esaltandosi certi fenomeni, come vedremo, per alcune piuttosto che per altre dosi. Gli afidi, durante l'esposizione, infatti, si presentavano, dopo un paio d'ore, quasi stanchi, con pochi e lievissimi movimenti sia del corpo e sia delle antenne, anche se molestati, e rimanevano in questo stato di collasso, diremo così, per quasi 24 ore dopo che l'esposizione era terminata. Tale fenomeno era, naturalmente, più accentuato negli afidi irradiati più a lungo, per i quali questo periodo di cosiddetta stanchezza durava anche più a lungo rispetto agli altri. E la vita non cessava. Anzi, dopo un certo numero di giorni, variabile a seconda della in-

tensità con cui gli afidi erano stati irradiati, essi cominciarono a riprodursi, il che mi aveva, in un primo tempo, indotto a credere di essere, nella esposizione, discesa al di sotto della dose letale. Ma, dopo ripetute prove, constatai che nascevano i piccoli che erano frutto di uova già in segmentazione prima della irradiazione, quasi che questa fosse impotente ad arrestare il processo divisionale, quando in realizzazione, come ebbero anche a notare il Meldolesi e il Reverberi in *Colpidium colpoda*, mentre, in seguito, l'individuo moriva, dopo un certo periodo di tempo, senza più essersi riprodotto. Anche i piccoli, nati dopo l'irradiazione, morivano in un lasso di tempo brevissimo. Irradiando gli afidi col preparato B, di intensità circa venti volte minore, vidi che, usando le durate di esposizione corrispondenti alle dosi forti, su cui già mi ero basata col preparato radioattivo A, giungevo a risultati analoghi a quelli ottenuti con dosi medie e col preparato radioattivo A. Si innalzava, così, fino ad una settantina di ore la dose tollerata dagli afidi, che presentavano, inoltre, gli stessi fenomeni che ora ho descritto per gli individui irradiati con dosi medie.

Riporto in uno specchietto i dati medi riferentisi al numero di giorni occorsi perchè avvenisse la loro unica riproduzione e alla durata di vita dei singoli lotti di individui irradiati con le diverse dosi comprese tra 15 e 3 ore, avendo, naturalmente, preso in osservazione individui che si trovavano nello stesso grado di sviluppo.

TABELLA N. 1.

Durata della esposizione	Numero dei giorni dopo i quali si riprodussero	Durata di vita dei generanti	Durata di vita dei figli
15 h.	15	16	1
12 »	13	15	1
10 »	13	18	2
8 »	11	21	1
6 »	11	23	3
3 »	9	25	2
Controllo	11	60	50

Dall'esame di tale specchietto risulta come la riproduzione sia stata piuttosto ritardata per gli afidi irradiati con dosi maggiori, e seguita subito dalla morte degli individui generanti e dei generati. A mano a mano che discendiamo nella intensità di irradiazione la riproduzione avviene entro un numero di giorni normale, rispetto al controllo, la durata di vita aumenta e, infine, per la dose minima, di 3 ore, riscontriamo una lieve accelerazione, sempre rispetto al controllo, accompagnata da una durata massima di vita, 25 giorni, pur non verificandosi più fenomeni riproduttivi. Per cercare di spiegarmi il motivo di questo fenomeno di inibizione alla riproduzione, intrapresi l'esame istologico dagli individui irradiati, prima della loro morte, soffermandomi specialmente nello studio delle uova. Per evitare il dubbio che diversità anche minime di tecnica influissero sul modo di presentarsi delle cellule, inclusi insieme e colorati sullo stesso vetrino afidi normali e afidi irradiati con le diverse dosi. Le uova degli afidi di controllo presentavano, come al solito, una massa cromatinica ben netta e visibile entro un citoplasma caratteristicamente areolato. Le uova, invece, degli afidi irradiati avevano, sì, la massa cromatinica apparentemente intatta, ma il citoplasma non presentava più areole nettamente visibili, ma era piuttosto a gocce e interrotto in più parti.

Poco, del resto, ci può dire ormai un esame istologico, perchè ignoriamo nel modo più assoluto se qualche cambiamento chimico o fisico-chimico sia avvenuto in seno alla massa cromatinica o al citoplasma, cambiamento tale da provocare anche la morte degli individui sottoposti ad irradiazione.

**Irradiazione con dosi piccole.** — La lieve accelerazione del ritmo riproduttivo verificatasi negli afidi irradiati 3 ore, al che ho sopra accennato, doveva essere l'indice di un fenomeno che si verificò su larga scala, come vedremo, per gli afidi irradiati con dosi piccole, cioè comprese tra venti minuti e un'ora e mezza.

Con lo scopo, infatti, di vedere quale fosse la soglia, al di sotto della quale gli afidi continuassero a vivere e a riprodursi, diminuii le dosi di irradiazione fino a raggiungere i venti minuti. Le durate delle irradiazioni scelte furono le seguenti: 20<sup>m</sup>, 30<sup>m</sup>, 40<sup>m</sup>, 50<sup>m</sup>, 60<sup>m</sup>, 70<sup>m</sup>, 80<sup>m</sup>, 90<sup>m</sup>, differenti cioè, costantemente di soli 10<sup>m</sup> tra una prova e l'altra. Bastò anche quest'intervallo apparentemente minimo a provocare diversità notevoli di intensità

nella reazione data dagli afidi dopo l'irradiazione. Riporto nel seguente specchietto (Tabella N. 2) i dati riferentisi a questo gruppo di esperimenti. Accanto alla prima colonna, in cui è stata indicata la durata della esposizione, nelle colonne successive, I, II, III, IV, riporto il numero dei giorni dopo i quali apparvero la prima, la seconda, la terza, la quarta generazione.

TABELLA N. 2.

Durata della esposizione	I	II	III	IV
90 <sup>m</sup>	6	7	9	11
80 <sup>m</sup>	8	8	9	12
70 <sup>m</sup>	8	9	10	11
60 <sup>m</sup>	8	9	11	11
50 <sup>m</sup>	9	10	11	12
40 <sup>m</sup>	9	10	11	12
30 <sup>m</sup>	9	11	12	11
20 <sup>m</sup>	10	12	11	12
Controllo	12	12	11	12

Venendo, ora, ad illustrare i dati riportati nella tabella, notiamo, anzitutto, che le irradiazioni via via di minore intensità (20<sup>m</sup>, 30<sup>m</sup>, 40<sup>m</sup>, 50<sup>m</sup>) producevano una accelerazione rispetto al controllo relativamente sempre piccola nel ritmo riproduttivo, fino ad annullarsi praticamente per i 20<sup>m</sup>. Infatti, vediamo che l'intervallo di tempo intercorrente tra la prima e la seconda generazione era, per gli afidi irradiati 50<sup>m</sup>, 40<sup>m</sup>, 30<sup>m</sup>, 20<sup>m</sup>, rispettivamente, di 12, 11, 10, 10 giorni, quando per i controlli, di norma, si aggirava intorno ai 12 giorni. Più cospicuo si presentava il fenomeno per gli afidi irradiati 90<sup>m</sup>, 80<sup>m</sup>, 70<sup>m</sup>, 60<sup>m</sup>; assai più rapidamente, infatti, si riproducevano nella prima generazione, che si ebbe, rispettivamente, dopo 8, 8, 8 e 6 giorni, con un anticipo, cioè, sul normale di 4-6 giorni. Inoltre, nella seconda generazione, perdurava ancora questa specie di eccitazione, sebbene lievemente attenuata, per cui gli afidi irradiati 90<sup>m</sup>, 80<sup>m</sup>, 70<sup>m</sup>, 60<sup>m</sup> si ri-

producevano, rispettivamente, dopo 9, 9, 8, 7 giorni, cioè con un anticipo sul normale di 3-5 giorni. Nella terza generazione, invece, assistiamo ad una tendenza al ritorno alla normalità, dato che l'intervallo di tempo intercorrente tra la seconda e la terza generazione è di 11, 10, 9, 9 giorni rispettivamente per gli afidi irradiati 90<sup>m</sup>, 80<sup>m</sup>, 70<sup>m</sup>, 60<sup>m</sup>. Nella quarta generazione si tornava alla perfetta normalità, e su tale base, in seguito, si mantenevano le successive generazioni, per cui non giudico opportuno riportarne qui i dati. Gli afidi figli, nati nelle singole covate, presentavano un ciclo biologico perfettamente normale.

Lo stesso andamento dei fenomeni, che non è il caso che io ripeta, si ebbe anche per gli afidi irradiati con la preparazione radioattiva B, ma con dosi medie. Le dosi piccole, invece, usate con questo preparato, non ebbero alcuna influenza sul ciclo biologico degli afidi che continuò a presentarsi perfettamente normale.

**Considerazioni e conclusione.** — Mi pare anzitutto interessante notare che i fenomeni, verificatisi in seguito alle irradiazioni con dosi deboli di raggi gamma, presentano lo stesso andamento che ebbi, in precedenti esperimenti, modo di notare negli afidi da me irradiati con raggi X, in cui potei constatare sempre, specialmente per alcune dosi, una netta accelerazione del ritmo riproduttivo.

Questo fatto mi appare interessante perchè si ricollega al problema tanto discusso e, si può dire, ancora insoluto, circa l'azione stimolatrice del ritmo divisorio da parte di deboli irradiazioni.

Nel campo biologico, dove le condizioni sperimentali sono più soggette a controllo, le esperienze dei vari Autori non sembrano del tutto decisive. Da un lato stanno le esperienze del Packard (1915), il quale con raggi provenienti da una sorgente di 50 mg di RaBr e 23,4 mg di RaE, ottenne accelerazione netta, nella divisione, in uova di *Arbacia* subito dopo la fecondazione, quelle del Markowitz (1921) il quale con mesotorio, equivalente a 10 mg di RaBr, con 60 minuti di irradiazione, constatò una netta accelerazione del ritmo divisorio, del Mac Clendon (1912) sul Riccio di mare e del Richards (1914) su *Planorbis*, che ottennero gli stessi fenomeni di eccitazione del ritmo divisorio. Dall'altro lato tro-

viamo esperimenti che ci affermano che un ritardo si ha sempre nel ritmo riproduttivo dopo irradiazioni di breve durata. Infatti, il Packard stesso (1918) in uova di *Chaetopterus* irradiate con 50 mg di RaBr, prima della fecondazione, osservò divisione ritardata; il Perthes (1904) con raggi X su uova di *Ascaris megalcephala* e su tripanosomi in coltura irradiati con 4 mg di RE in cellula di platino, ottenne egli pure ritardo; il Meldolesi e il Reverberi (1930) notarono che il ciclo riproduttivo di *Colpidium colpoda*, per effetto di dosi piccole di RE presenta un'accelerazione effimera, che, essendo preceduta da un periodo di inibizione e seguita da una curva di discesa, non può essere considerata una vera e reale eccitazione ma, piuttosto, come una reazione alla primitiva fase depressiva.

Questo non è avvenuto in seguito ai miei esperimenti, sia quelli, di cui sopra accennavamo, con i raggi X, e sia quelli, di cui ho ora riferito, con i raggi gamma. Infatti, nei miei esperimenti, l'eccitazione, per determinate dosi, è stata nettissima e si è verificata subito, sin dalla prima generazione partenogenetica. Certo, con molta prudenza si deve procedere, come tutti gli Autori affermano, per concludere, dato che molti sono i fattori che, interferendo, possono alterare i risultati, come, ad esempio, la diversità del materiale e del metodo di irradiazione e il diverso momento metabolico. Inoltre, la quantità dell'irradiazione ha certo una importanza grandissima nel giuoco dei fattori che influiscono sull'andamento dell'esperimento in un senso oppure, talvolta, in un senso opposto.

Concludendo, abbiamo visto che:

1) le dosi forti di preparazione radioattiva hanno prodotto la morte quasi istantanea della colonia di afidi esposta;

2) le dosi medie, usate in esposizione diretta, hanno prodotto un'unica riproduzione seguita a distanza di diversi giorni dalla morte di tutti gli individui, generanti e generati;

3) le dosi piccole, invece, hanno favorito la riproduzione, accelerandone il ritmo, che è tornato poi perfettamente normale, sempre rispetto ai controlli, soltanto dopo tre generazioni.

Milano, 6 aprile 1935 - XIII.



## BIBLIOGRAFIA

- MARKOWITZ E. — Ueber die Einwirkung des Mesothoriums auf einzellige. Fortschr. a. R. Geb. d. Roentg., 28, 1921.
- MELDOLESI G. e REVERBERI G. — Effetti della radio-emanazione sul ritmo riproduttivo e sulla morfologia di *Colpidium colpoda*. Boll. dell'Ist. di Zool. della R. Univ. di Roma, vol. VIII, 1930.
- PACKARD Ch. — The effect of Radium Radiations on the rate of cell division. Journ. Exp. Zool., 21, 1915.
- PERTHES G. — Versuche über den Einfluss der Roentgenstrahlen auf die Zellteilung. Deutsch. Med. Woch., 30, 1904.
- PIROCCHI L. — Mutazioni ottenute in *Macrosiphum rosae* L. mediante l'azione dei raggi X. Riv. di Biol., Vol. XV, Fasc. III-IV, 1933.
- ID. — Influenza dei raggi Ultra-Violetti su *Macrosiphum rosae* L. Atti Soc. Ital. Scienze Naturali, Vol. LXXIII, 1934.
- ID. — Mutazioni ottenute in *Macrosiphum rosae* L. mediante l'azione dei raggi X (terza serie di esperienze). Rend. R. Ist. Lom. di Scienze e Lettere, Vol. LXVIII, Fasc. I-V, 1934.
- RICHARDS A. — The effect of X-rays on the rate of cell-division in early cleavage of *Planorbis*. Biol. Bull., 27, 1914.
- VIALE G. — Le azioni biologiche delle radiazioni. Milano, Treves, 1934.
-